

苏韦赫, 吉星, 张莉莉, 等. 江苏省鸡源沙门菌的分子流行病学特征分析[J]. 江苏农业学报, 2025, 41(6):1188-1196.

doi:10.3969/j.issn.1000-4440.2025.06.015

## 江苏省鸡源沙门菌的分子流行病学特征分析

苏韦赫<sup>1,2</sup>, 吉星<sup>2</sup>, 张莉莉<sup>2</sup>, 王佳芸<sup>2</sup>, 何涛<sup>1,2</sup>, 王冉<sup>1,2</sup>

(1.江苏大学食品与生物工程学院, 江苏 镇江 212013; 2.江苏省农业科学院农产品质量安全与营养研究所/省部共建国家重点实验室培育基地——江苏省食品质量安全重点实验室, 江苏 南京 210014)

**摘要:** 为明确江苏省鸡源沙门菌的分子流行病学特征, 本研究通过采集江苏省 8 市规模化养鸡场病鸡粪便样本 1 641 份, 分离沙门菌, 并使用微量肉汤稀释法测定沙门菌分离菌株对抗菌药物的敏感性, 基于全基因组测序技术分析分离菌株的耐药基因、毒力基因的携带情况, 通过鉴定沙门菌的抗原结构式判断分离菌株的血清型, 通过多位点序列分型 (MLST) 和系统发育树分析江苏省沙门菌的流行特征。结果表明, 从 1 641 份鸡粪样品中共分离出 266 株沙门菌, 分离率为 16.21%; 分离菌株对氨苄西林和磺胺甲噁唑的耐药率较高, 分别为 56.39% 和 55.64%; 多重耐药菌占比为 53.38%。携带 *sul2*, *bla<sub>TEM-1</sub>* 和 *tetA* 等耐药基因的菌株比例较高, 分别为 59.40%、56.77% 和 39.10%。分离菌株的多位点序列分型 (MLST) 共鉴定出 21 种 ST 型, 其中 ST11 型占比高达 49.62%。血清型以肠炎、鸡白痢、鼠伤寒和印第安纳为主。分离得到的沙门菌共分为 5 个遗传进化分支, 相同的养殖场分离株之间遗传进化关系比较接近, 不同养殖场分离株的遗传关系较远。本研究结果为江苏省鸡源沙门菌的精准防治提供了依据。

**关键词:** 鸡源沙门菌; 流行病学; 血清型; 多位点序列分型; 耐药基因; 毒力基因

**中图分类号:** S852.61 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-4440(2025)06-1188-09

## Molecular epidemiological characteristics of *Salmonella* isolated from chickens in Jiangsu province

SU Weihe<sup>1,2</sup>, JI Xing<sup>2</sup>, ZHANG Lili<sup>2</sup>, WANG Jiayun<sup>2</sup>, HE Tao<sup>1,2</sup>, WANG Ran<sup>1,2</sup>

(1. School of Food and Biological Engineering, Jiangsu University, Zhenjiang 212013, China; 2. Institute of Food Safety and Nutrition, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences/Jiangsu Key Laboratory for Food Quality and Safety—State Key Laboratory Cultivation Base, Ministry of Science and Technology, Nanjing 210014, China)

**Abstract:** In order to clarify the molecular epidemiological characteristics of *Salmonella* from chickens in Jiangsu province, 1 641 fecal samples of sick chickens from large-scale chicken farms in eight cities of Jiangsu province were collected to isolate *Salmonella*, and the sensitivity of *Salmonella* isolates to antibiotics was determined by microbroth dilution method. Based on the whole genome sequencing technology, the carrying status of drug resistance genes and virulence genes of the isolates was analyzed. The serotype of the isolates was determined by identifying the antigenic structure of *Salmonella*, and the epidemiological characteristics of *Salmonella* in Jiangsu province were analyzed by multilocus sequence typing (MLST) and phylogenetic tree. The results showed that 266 strains of *Salmonella* were isolated from 1 641 chicken manure samples, and the isolation rate was 16.21%. The resistance rates of the isolated strains to ampicillin and sulfamethoxazole were 56.39% and 55.64%, respectively. Multi-drug resistant bacteria accounted for 53.38%. The proportion of strains carrying *sul2*, *bla<sub>TEM-1</sub>* and *tetA* genes was 59.40%,

收稿日期: 2024-06-19

基金项目: “十四五”国家重点研发计划项目(2023YFD1800303)

作者简介: 苏韦赫(1998-), 男, 河南商丘人, 硕士研究生, 研究方向为细菌与噬菌体互作。(E-mail) swh19139013194@163.com

通讯作者: 何涛, (E-mail) vethetao@163.com; 王冉, (E-mail) ranwang@jaas.ac.cn

56.77% and 39.10%, respectively. A total of 21 ST types were identified by MLST, of which ST11 accounted for 49.62%. The serotypes were mainly enteritidis, pullorum disease, typhoid fever and Indiana. The *Salmonella* isolates were divided into five genetic evolution branches. The genetic evolution relationship between the same farm isolates was rela-

tively close, and the genetic relationship between different farm isolates was far. The results of this study provide a basis for the precise prevention and control of *Salmonella* in chickens in Jiangsu province.

**Key words:** *Salmonella* isolated from chickens; epidemiology; serotypes; multilocus sequence typing; resistance genes; virulence genes

沙门菌以其独特的革兰氏阴性特性在自然界中广泛存在,是一种重要的人畜共患食源性病原菌<sup>[1]</sup>。沙门菌常寄生于人和动物体内,特别是家禽、家畜及宠物的肠道中。目前全球已经发现2 600多种血清型沙门菌<sup>[2]</sup>。沙门菌每年导致约 $1.8 \times 10^8$ 例腹泻疾病,并且造成450余人死亡,在食源性病原菌中毒事件中位居首位<sup>[3]</sup>。

长期以来,沙门菌是中国家禽细菌性流行病最主要的致病菌。目前中国报道的沙门菌血清型已有300多种,其中鼠伤寒、肠炎、鸡白痢等血清型最为常见<sup>[4]</sup>。服用抗菌药是中国防治沙门菌的重要手段,但抗菌药的长期滥用,导致沙门菌的耐药性逐年增加,甚至出现了多重耐药菌<sup>[5]</sup>。不同地区由于流行的沙门菌血清型差异,沙门菌防治的用药种类以及方式不同,导致中国各地区沙门菌的耐药情况存在一定的差异。近50年来,广东、四川和辽宁分离的沙门菌菌株对磺胺甲噁唑耐药率较高,而山东省分离的沙门菌菌株对氨基西林和四环素耐药率较高<sup>[6]</sup>。因此,区域性鸡源沙门菌的耐药特征分析对该地区沙门菌感染的精准防治具有重要意义<sup>[7]</sup>。

随着生物信息技术的发展,通过全基因组测序(Whole genome sequencing, WGS)可以快速获得沙门菌的分子分型以及耐药基因携带特征,进而揭示沙门菌的进化规律以及危害风险<sup>[8]</sup>。江苏省是中国家禽养殖重要省份,虽然已有学者初步开展江苏省鸡源沙门菌血清型和耐药率等表型特征的研究<sup>[9-10]</sup>,但调查区域较小,且对沙门菌的耐药基因及毒力基因缺乏分析。为实现更精准的江苏省沙门菌防治,本研究从江苏省8市规模化鸡养殖场采集病鸡鸡粪样本1 641份,分离沙门菌,并通过全基因组测序技术,进行江苏省鸡源沙门菌的耐药基因和毒力基因携带情况分析,基于血清分型、多位点序列分型(MLST)和系统进化树分析江苏省鸡源沙门菌的流行情况,为江苏地区鸡源沙门菌的精准防治提供科学依据。

## 1 材料与amp;方法

### 1.1 沙门菌的分离鉴定

2016年6月到2020年12月,从江苏南京、扬

州、南通、徐州、常州、淮安、盐城、宿迁8市的规模化鸡养殖场采集病鸡鸡粪样本1 641份。称取各样本25 g新鲜样本分别放入装有225 mL缓冲蛋白胨水(BPW)的无菌采样袋中,揉搓均匀后放置于36 ℃恒温摇床,转速160 r/min振荡12 h,随后取1 mL培养后的混合液加入到含有10 mL四硫磺酸钠亮绿培养基(TTB)的容器内,42 ℃培养24 h。培养结束后,用接种环取培养液在亚硫酸铋琼脂培养基(BS)平板上划线,于36 ℃培养36 h,挑取平板上具有金属光泽的黑色、棕色或灰绿色菌落,使用LB肉汤培养,得到沙门菌菌液<sup>[11]</sup>。

### 1.2 药敏试验

采用微量肉汤稀释法对沙门菌分离株进行抗菌药物敏感性试验<sup>[12]</sup>。测定的抗菌药有:氨基西林、磺胺甲噁唑、卡那霉素、庆大霉素、四环素、多西环素、氟苯尼考、利福平、磷霉素、恩诺沙星。根据CLSI(临床实验室标准协会)制定的药物敏感性判断标准对试验结果进行解释。

### 1.3 16S rRNA PCR 鉴定

使用DP302-2细菌基因组DNA提取试剂盒(北京天根生化科技有限公司产品)提取上述分离菌株的DNA<sup>[13]</sup>,并对其16S rRNA和*invA*基因<sup>[14]</sup>进行扩增,引物如表1所示。PCR反应体系20 μL:上下游引物各1 μL, *Es TaqMaster Mix* 10 μL, 菌液2 μL, ddH<sub>2</sub>O 6 μL。PCR程序:94 ℃变性5.0 min;94 ℃变性30.0 s, 55 ℃退火30.0 s, 72 ℃延伸1.5 min, 30个循环;72 ℃延伸10.0 min。PCR反应产物进行琼脂糖凝胶电泳,阳性结果委托南京擎科生物科技有限公司基于Illumina HiSeq2000测序平台(美国Illumina公司产品)进行全基因组测序。

表1 *invA* 基因和16S rRNA的扩增引物序列

Table 1 Amplified primer sequences of *invA* and 16S rRNA

目的基因	引物名称	序列(5'→3')	产物大小(bp)
<i>invA</i>	<i>invA</i> -F	AAAAGAAGGGTCGTCGTTAG	280
	<i>invA</i> -R	TACCACTCGCATCAAATCAA	
16S rRNA	16S rRNA-F	AGAGTTTGATCCTGGCTCAG	1 400
	16S rRNA-R	AGAGTTTGATCCTGGCTCAG	

### 1.4 全基因组分析

使用 Biostack 软件对测序得到的原始序列进行组装拼接,利用 Prokka 软件对拼接后的基因组序列进行注释。利用 Mash 软件构建沙门菌系统发育树。通过 iTOL 在线软件<sup>[15]</sup>编辑沙门菌的系统发育树分支网络。根据法国巴斯德研究所 (Institut Pasteur) 的 MLST (多位点序列分型) 数据库 (<https://bigsgdb.pasteur.fr/>) 中 7 个高度保守的基因 (*hisD*、*purE*、*sucA*、*aroC*、*thrA*、*dnaN* 和 *hemD*) 序列,分析分离得到的沙门菌基因序列分型 (ST)<sup>[16]</sup>。基于基因组流行病学中心 (CGE) 的 SeqSero2 血清分型数据库 (<https://www.genomicepidemiology.org/>) 及测序得到的沙门菌菌株全基因组组装序列,确定沙门菌的血清型。使用 Res Finder 和 VFDB Finder 数据库

表 2 沙门菌分离情况及主要血清型占比

Table 2 The isolation situation of *Salmonella* and the proportion of main serotypes

地区	调查总样本数	鉴定出沙门菌株数	沙门菌分离率 (%)	主要沙门菌血清型占比 (%)			
				肠炎型	鸡白痢型	印第安纳型	鼠伤寒型
南京	255	26	10.20	61.54	11.54	7.69	11.54
徐州	214	33	15.42	45.45	15.15	9.09	6.06
盐城	215	31	14.42	41.94	12.90	9.68	9.68
扬州	232	48	20.68	54.17	6.25	10.42	8.33
宿迁	196	37	18.88	45.95	10.81	10.81	10.81
淮安	201	24	11.94	50.00	16.67	8.33	12.50
常州	195	49	25.12	51.02	16.33	16.33	8.16
南通	133	18	13.53	44.44	27.78	11.11	11.11

### 2.2 药敏试验

鉴定得到的 266 株沙门菌对 10 种抗菌药物的敏感性如图 1 所示。从图中可以看出,266 株分离菌株对氨苄西林的耐药率最高,达 56.39%,其次为磺胺甲噁唑,为 55.64%。266 株沙门菌分离菌株对庆大霉素、四环素、卡那霉素和多西环素的耐药率介于 30%~40%,对氟苯尼考、利福平和磷霉素的耐药率介于 10%~30%,对恩诺沙星的耐药率最低,为 6.39%。耐 3 种及以上抗菌药物的多重耐药 (MDR) 菌株为 142 株,占分离沙门菌总株数的 53.38%,其中,有 5 株对 10 种抗菌药物都具有耐药性,占分离株总数的 1.50%。

### 2.3 耐药基因检测

基于耐药基因预测网站 Res Finder 从分离得到的 266 株沙门菌菌株中共检测得到 64 个耐药基因 (表 3),

分析沙门菌的耐药基因和毒力基因<sup>[17]</sup>。

## 2 结果与分析

### 2.1 江苏部分地区沙门菌的流行情况

江苏省 8 市 1 641 份鸡粪样品中共分离鉴定出 266 株沙门菌菌株,分离率为 16.21%。其中,常州市养鸡场采集样本的沙门菌分离率最高,为 25.12%;南京市采集样本沙门菌分离率最低,为 10.20%;淮安市、南通市、盐城市、徐州市、宿迁市、扬州市等市采集样本的沙门菌分离率依次为 11.94%、13.53%、14.42%、15.42%、18.88%、20.68%。分离菌株血清型占比从高到低主要为肠炎型 49.62%、鸡白痢型 13.53%、印第安纳型 10.90% 和鼠伤寒型 9.40%。其中,肠炎沙门菌在各市鸡粪样本中的检出率均最高 (表 2)。

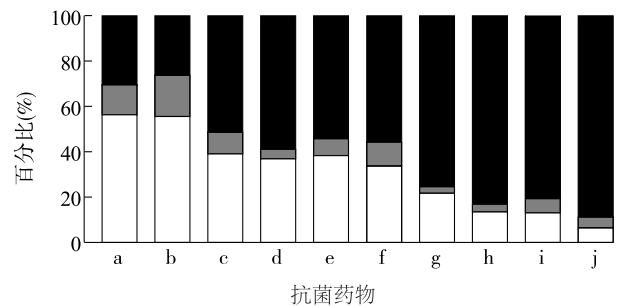


图 1 分离菌株耐药表型占比

Fig. 1 Proportion of drug-resistant phenotypes in isolated strains

包括 16 个氨基糖苷类耐药基因 [*aph*(3')-Ib、*aph*(6)-Id、*aph*(4)-Ia、*aph*(3')-Ia、*aac*(3)-Iva、*aph*(3')-IIa、*aac*(6)-

*Ib-cr5*、*ant* (3<sup>''</sup>)-*Ia*、*aac* (3)-*IId*、*aadA1*、*aadA2*、*aadA5*、*aadA16*、*aadA22*、*aadA27*、*aadD1*]、12个β-内酰胺类耐药基因(*bla*<sub>CARB-2</sub>、*bla*<sub>CMY-2</sub>、*bla*<sub>CTX-M-14</sub>、*bla*<sub>CTX-M-15</sub>、*bla*<sub>CTX-M-55</sub>、*bla*<sub>CTX-M-65</sub>、*bla*<sub>DHA-1</sub>、*bla*<sub>OXA</sub>、*bla*<sub>OXA-1</sub>、*bla*<sub>OXA-10</sub>、*bla*<sub>TEM</sub>、*bla*<sub>TEM-1</sub>)、9个磺胺类耐药基因(*sul1*、*sul2*、*sul3*、*dfrA1*、*dfrA12*、*dfrA14*、*dfrA17*、*dfrA27*、*dfrA32*)、7个四环素类耐药基因(*tetA*、*tetB*、*tetC*、*tetG*、*tetJ*、*tetM*、*tetX4*)、6个氯霉素类耐药基因(*catA*、*catA1*、*catB3*、*cmlA1*、*cmlA5*、*floR*)、6个喹诺酮类耐药基因(*oqxA*、*oqxB*、*qnrA1*、*qnrA3*、*qnrD1*、*qnrS1*)、4个磷霉素类耐药基因(*fos*、*fosA3*、*fosA7.2*、*fosA7.3*)、2个大环内酯类耐药基因(*mphA*、*mphE*)、2个利福平类耐药基

因(*arr-2*、*arr-3*)。59.40%的分离株携带磺胺类耐药基因*sul2*和56.77%的分离株携带β-内酰胺类耐药基因*bla*<sub>TEM-1</sub>。氨基糖苷类耐药基因*aph* (3<sup>''</sup>)-*Ib*、*aph* (6)-*Id*、*aadA5*、四环素类耐药基因*tetA*、氯霉素类耐药基因*floR*、磺胺类耐药基因*dfrA17*的检出率均在20%以上。95%以上的分离株中可以检出至少1种与耐药表型对应的耐药基因,说明耐药基因型与耐药表型具有较好的符合率。质粒介导的喹诺酮类耐药基因(*oqxA*、*oqxB*、*qnrS1*、*qnrA1*、*qnrA3*和*qnrD1*)与耐药表型的符合率为60.71%,其原因可能是上述耐药基因仅介导低水平的喹诺酮类耐药性<sup>[18]</sup>。

表3 检测出的耐药基因

Table 3 The detected drug resistance genes

抗生素类别	耐药基因	含耐药基因菌株数	检出率(%)	抗生素类别	耐药基因	含耐药基因菌株数	检出率(%)	
氨基糖苷类	<i>aph</i> (3 <sup>''</sup> )- <i>Ib</i>	104	39.10	喹诺酮类	<i>sul3</i>	14	5.26	
	<i>aph</i> (6)- <i>Id</i>	103	38.72		<i>dfrA1</i>	13	4.89	
	<i>aph</i> (4)- <i>Ia</i>	40	15.04		<i>dfrA12</i>	10	3.76	
	<i>aph</i> (3 <sup>''</sup> )- <i>Ia</i>	25	9.40		<i>dfrA14</i>	9	3.38	
	<i>aac</i> (3)- <i>Iva</i>	39	14.66		<i>dfrA17</i>	61	22.93	
	<i>aph</i> (3 <sup>''</sup> )- <i>Ila</i>	1	0.38		<i>dfrA27</i>	1	0.38	
	<i>aac</i> (6 <sup>''</sup> )- <i>Ib-cr5</i>	36	13.53		<i>dfrA32</i>	2	0.75	
	<i>aadA1</i>	20	7.52		利福平类	<i>oqxA</i>	28	10.53
	<i>ant</i> (3 <sup>''</sup> )- <i>Ia</i>	1	0.38			<i>oqxB</i>	27	10.15
	<i>aac</i> (3)- <i>IId</i>	4	1.50	<i>qnrS1</i>		12	4.51	
	<i>aadA2</i>	20	7.52	<i>qnrA1</i>		2	0.75	
	<i>aadD1</i>	1	0.38	<i>qnrA3</i>		1	0.38	
	<i>aadA16</i>	1	0.38	<i>qnrD1</i>		1	0.38	
	β-内酰胺类	<i>aadA5</i>	61	22.93	磷霉素类	<i>arr-2</i>	5	1.88
		<i>aadA27</i>	2	0.75		<i>arr-3</i>	36	13.53
		<i>aadA22</i>	1	0.38		<i>fos</i>	4	1.50
		<i>aadA16</i>	1	0.38		<i>fosA3</i>	35	13.16
		大环内酯类	<i>bla</i> <sub>CARB-2</sub>	8	3.01	<i>fosA7.2</i>	3	1.13
<i>bla</i> <sub>CMY-2</sub>			1	0.38	<i>fosA7.3</i>	1	0.38	
<i>bla</i> <sub>CTX-M-14</sub>			11	4.14	四环素类	<i>tetA</i>	104	39.10
<i>bla</i> <sub>CTX-M-15</sub>			2	0.75		<i>tetB</i>	9	3.38
<i>bla</i> <sub>CTX-M-55</sub>			2	0.75		<i>tetC</i>	2	0.75
<i>bla</i> <sub>CTX-M-65</sub>			23	8.65		<i>tetG</i>	9	3.38
<i>bla</i> <sub>DHA-1</sub>			2	0.75		<i>tetJ</i>	2	0.75
<i>bla</i> <sub>OXA</sub>			2	0.75		<i>tetM</i>	1	0.38
<i>bla</i> <sub>OXA-1</sub>	35		13.16	<i>tetX4</i>	3	1.13		
<i>bla</i> <sub>OXA-10</sub>	5		1.88	氯霉素类	<i>catA</i>	2	0.75	
<i>bla</i> <sub>TEM</sub>	4	1.50	<i>catA1</i>		20	7.52		
<i>bla</i> <sub>TEM-1</sub>	151	56.77	<i>catB3</i>		36	13.53		
磺胺类	<i>sul1</i>	48	18.05		<i>cmlA1</i>	12	4.51	
	<i>sul2</i>	158	59.40		<i>cmlA5</i>	5	1.88	
					<i>floR</i>	58	21.80	

### 2.4 毒力因子

基于细菌致病菌毒力因子 (VFDB) 数据库, 分离得到的 266 株沙门菌中共预测到 160 个毒力基因 (表 4)。黏附类毒力因子 *csgA*、*csgB*、*csgC*、*csgD*、*csgE*、*csgF*、*csgG*、*lpfD*、*misL*、*ratB*、*shdA*、*sinH*、*fimA*、*fimC*、*fimD*、*fimF*、*fimH*、*fimI*、*fimW*、*fimY*、*fimZ*, VI 型分泌相关基因 *STM0266*、*STM0267*、*STM0287*、*STM0289*、*tlde1*, III 型分泌系统控制基因 *hilA*、*hilC*、*hilD*、*iacp*、*iagB*、*invA*、*invB*、*invC*、*invE*、*invF*、*invG*、*invH*、*invI*、*invJ*、*orgA*、*orgB*、*orgC*、*prgH*、*prgI*、*prgJ*、*prgK*、*sicA*、*sipB*、*sipC*、*sipD*、*sicP*、*spaO*、*spaP*、*spaQ*、*spaR*、*spaS*、*sprB*、*spiC*、*ssaC*、*ssaD*、*ssaE*、*ssaG*、*ssaH*、*ssaI*、*ssaJ*、*ssaK*、*ssaL*、*ssaM*、*ssaN*、*ssaO*、*ssaP*、*ssaQ*、*ssaR*、

*ssaS*、*ssaT*、*ssaU*、*ssaV*、*ssaX*、*ssaY*、*sscA*、*sscB*、*sseA*、*sseB*、*sseC*、*sseD*、*sseE*、*sseF*、*sseG*、*ssrA*、*ssrB*、*slrP*、*sspH1*、*sspH2*、*sipA*、*sopA*、*sopB*、*sopD*、*sopD2*、*sopE2*、*sptP*、*steA*、*steB*、*steC*、*pipB*、*pipB2*、*sifA*、*sifB*、*ssel*、*sseJ*、*sseL*、*sseK2*, 其他相关毒力基因 *mgtB*、*mgtC*、*mig-14*、*fur*、*phoP*、*phoQ*、*pmrA*、*pmrB*、*rpoS* 的检出率均在 90% 以上, 而外毒素相关基因 *cdtB*、*pltA*、*pltB* 的检出率较低。此外, 含有质粒携带的外毒素相关基因 *spvB*、*spvC*、*spvD* 的分离株分别为 191 株、193 株和 193 株, 这些基因是导致全身严重系统性疾病必不可少的毒力基因, 大多存在于肠炎和鼠伤寒沙门菌中, *spv* 毒力基因的缺失会导致沙门菌的毒力显著减弱<sup>[19]</sup>。

表 4 检测出的毒力基因

Table 4 The detected virulence genes

毒力基因类别		毒力基因	菌株检出数	检出率 (%)	毒力基因类别		毒力基因	菌株检出数	检出率 (%)
一级分类	二级分类				一级分类	二级分类			
黏附	卷曲菌毛	<i>csgA</i>	241	90.60	STM0268	119	44.74		
		<i>csgB</i>	266	100.00		<i>STM0269</i>	119	44.74	
		<i>csgC</i>	265	99.62		<i>STM0270</i>	119	44.74	
		<i>csgD</i>	265	99.62		<i>STM0271</i>	133	50.00	
		<i>csgE</i>	265	99.62		<i>STM0272</i>	133	50.00	
		<i>csgF</i>	265	99.62		<i>STM0273</i>	124	46.62	
		<i>csgG</i>	265	99.62		<i>STM0274</i>	124	46.62	
		长极性菌毛	<i>lpfA</i>	226		84.96	<i>STM0275</i>	119	44.74
			<i>lpfB</i>	226		84.96	<i>STM0276</i>	121	45.49
			<i>lpfC</i>	226		84.96	<i>STM0278</i>	114	42.86
	<i>lpfD</i>		265	99.62		<i>STM0279</i>	121	45.49	
	<i>lpfE</i>		230	86.47		<i>STM0280</i>	122	45.86	
	黏附素	<i>misL</i>	265	99.62		<i>STM0281</i>	122	45.86	
	质粒编码的菌毛	<i>pefA</i>	178	66.92		<i>STM0282</i>	123	46.24	
		<i>pefB</i>	178	66.92		<i>STM0283</i>	121	45.49	
		<i>pefC</i>	178	66.92		<i>STM0284</i>	121	45.49	
		<i>pefD</i>	178	66.92		<i>STM0285</i>	123	46.24	
		<i>ratB</i>	265	99.62		<i>STM0286</i>	122	45.86	
		<i>shdA</i>	265	99.62		<i>STM0287</i>	242	90.98	
		<i>sinH</i>	265	99.62		<i>STM0289</i>	251	94.36	
I 型菌毛		<i>fimA</i>	261	98.12	<i>STM0290</i>	104	39.10		
		<i>fimC</i>	265	99.62	VI 型分泌效应器	<i>tae4</i>	117	43.98	
		<i>fimD</i>	265	99.62	<i>tlde1</i>	240	90.23		
	<i>fimF</i>	265	99.62	III 型分泌系统毒力岛 1	<i>hilA</i>	264	99.25		
	<i>fimH</i>	265	99.62		<i>hilC</i>	265	99.62		
	<i>fimI</i>	262	98.50		<i>hilD</i>	265	99.62		
	<i>fimW</i>	265	99.62		<i>iacp</i>	265	99.62		
<i>fimY</i>	265	99.62	<i>iagB</i>	265	99.62				
<i>fimZ</i>	265	99.62	<i>invA</i>	265	99.62				
效应器传递系统	VI 型分泌系统 (T6SS)	<i>STM0266</i>	248	93.23	<i>invB</i>	265	99.62		
		<i>STM0267</i>	246	92.48	<i>invC</i>	265	99.62		

续表4 Continued4

毒力基因类别		毒力基因	菌株检出数	检出率 (%)	毒力基因类别		毒力基因	菌株检出数	检出率 (%)
一级分类	二级分类				一级分类	二级分类			
		<i>invE</i>	265	99.62			<i>sseC</i>	264	99.25
		<i>invF</i>	265	99.62			<i>sseD</i>	264	99.25
		<i>invG</i>	265	99.62			<i>sseE</i>	264	99.25
		<i>invH</i>	265	99.62			<i>sseF</i>	265	99.62
		<i>invI</i>	265	99.62			<i>sseG</i>	265	99.62
		<i>invJ</i>	265	99.62			<i>ssrA</i>	264	99.25
		<i>orgA</i>	265	99.62			<i>ssrB</i>	265	99.62
		<i>orgB</i>	264	99.25		III型分泌系统效应物	<i>slrP</i>	265	99.62
		<i>orgC</i>	265	99.62			<i>sspHI</i>	243	91.35
		<i>prgH</i>	265	99.62		III型分泌效应器-1	<i>avrA</i>	228	85.71
		<i>prgI</i>	265	99.62			<i>sipA</i>	265	99.62
		<i>prgJ</i>	265	99.62			<i>sopA</i>	265	99.62
		<i>prgK</i>	265	99.62			<i>sopB</i>	265	99.62
		<i>sicP</i>	265	99.62			<i>sopD</i>	265	99.62
		<i>sicA</i>	265	99.62			<i>sopE2</i>	265	99.62
		<i>sipB</i>	265	99.62			<i>sptP</i>	265	99.62
		<i>sipC</i>	265	99.62			<i>steA</i>	265	99.62
		<i>sipD</i>	265	99.62			<i>steB</i>	265	99.62
		<i>spaO</i>	265	99.62		III型分泌效应器-2	<i>gogB</i>	58	21.80
		<i>spaP</i>	265	99.62			<i>pipB</i>	265	99.62
		<i>spaQ</i>	265	99.62			<i>pipB2</i>	265	99.62
		<i>spaR</i>	265	99.62			<i>sifA</i>	265	99.62
		<i>spaS</i>	265	99.62			<i>sifB</i>	265	99.62
		<i>sprB</i>	265	99.62			<i>sopD2</i>	265	99.62
	III型分泌系统毒力岛 2	<i>spiC</i>	265	99.62			<i>sseI</i>	261	98.12
		<i>ssaC</i>	265	99.62			<i>sseJ</i>	265	99.62
		<i>ssaD</i>	265	99.62			<i>sseK1</i>	236	88.72
		<i>ssaE</i>	262	98.50			<i>sseK2</i>	265	99.62
		<i>ssaG</i>	264	99.25			<i>sseL</i>	265	99.62
		<i>ssaH</i>	264	99.25			<i>sspH2</i>	243	91.35
		<i>ssaI</i>	265	99.62			<i>steC</i>	265	99.62
		<i>ssaJ</i>	265	99.62	其他	外毒素	<i>spuB</i>	191	71.80
		<i>ssaK</i>	265	99.62			<i>spuC</i>	193	72.56
		<i>ssaL</i>	265	99.62			<i>spuD</i>	193	72.56
		<i>ssaM</i>	265	99.62			<i>cdtB</i>	44	16.54
		<i>ssaN</i>	265	99.62			<i>pltA</i>	43	16.17
		<i>ssaO</i>	265	99.62			<i>pltB</i>	43	16.17
		<i>ssaP</i>	265	99.62		侵袭相关	<i>rck</i>	176	66.17
		<i>ssaQ</i>	265	99.62		营养相关	<i>mgtB</i>	265	99.62
		<i>ssaR</i>	265	99.62			<i>mgtC</i>	265	99.62
		<i>ssaS</i>	265	99.62		压力相关	<i>sodCI</i>	209	78.57
		<i>ssaT</i>	265	99.62		抗菌剂	<i>mig-5</i>	192	72.18
		<i>ssaU</i>	265	99.62			<i>mig-14</i>	265	99.62
		<i>ssaV</i>	265	99.62		调节相关	<i>fur</i>	266	100.00
		<i>ssaX</i>	265	99.62			<i>phoP</i>	265	99.62
		<i>ssaY</i>	265	99.62			<i>phoQ</i>	265	99.62
		<i>sscB</i>	265	99.62			<i>pmrA</i>	265	99.62
		<i>sseA</i>	265	99.62			<i>pmrB</i>	265	99.62
		<i>sseB</i>	265	99.62			<i>rpoS</i>	266	100.00

## 2.5 系统发育分析

266 株沙门菌分离株的系统发育关系如图 2 所示。从图中可以看出,266 株沙门菌分离株可划分为 5 个遗传进化分支,各个分支内菌株携带的耐药基因和毒力基因类型和数量较为相似。与 SeqSero2 血清分型数据库比对后,266 株沙门菌分离株可分为 15 个不同的血清型,其中肠炎、鸡白痢、印第安纳、鼠伤寒为主要流行血清型,菌株占比分别为 49.62%、13.53%、10.90% 和 9.40%。266 个菌株的多位点序列分型 (MLST) 共获得 21 个不同的序列分型 (ST),其中 ST11 为优势分型,占比达 49.62%。同一 ST 型有可能位于不同的进化分支,但是不同地区流行的优势型均为 ST11 型肠炎沙门菌。值得注意的是,分离菌株中共得到 12 株新型血清型菌株以及 30 株新型 ST 型菌株。

## 3 讨论与结论

沙门菌是最重要的人畜共患病原菌,中国 70%~80% 的细菌性食源性疾病是由沙门菌引起的<sup>[20]</sup>,因此研究沙门菌的分子流行病学具有重要的意义。本研究从江苏省 8 个市规模化鸡养殖场的粪便中进行沙门菌的分离,并对其耐药基因和毒力基因的流行特征以及遗传进化关系进行分析,为江苏鸡源沙门菌的精准防治提供科学依据。本研究采集的鸡粪便样本中沙门菌的分离率为 16.21%,这与丁鑫<sup>[21]</sup>的研究结果 (16.10%) 一致。Sun 等<sup>[22]</sup> 从全国 12 个省 51 个养鸡场的 3 566 份直肠拭子样品中分离到 323 株沙门菌,分离率为 9.8%,低于本研究结果,这说明采样地点对菌株分离率有一定的影响。本研究分离得到的 266 株沙门菌共鉴定出 15 种血清型及 21 个 ST 型,血清型以肠炎、鸡白痢为主,这与张纯萍等<sup>[23]</sup> 的研究结果一致。序列分型中江苏沙门菌的优势型为 ST11,与王小龙等<sup>[24]</sup> 的研究结果一致,而近年来新兴的血清型 ST17 印第安纳型沙门菌尚未在江苏地区大规模流行,这与赵建梅等<sup>[25]</sup> 的研究结果一致。

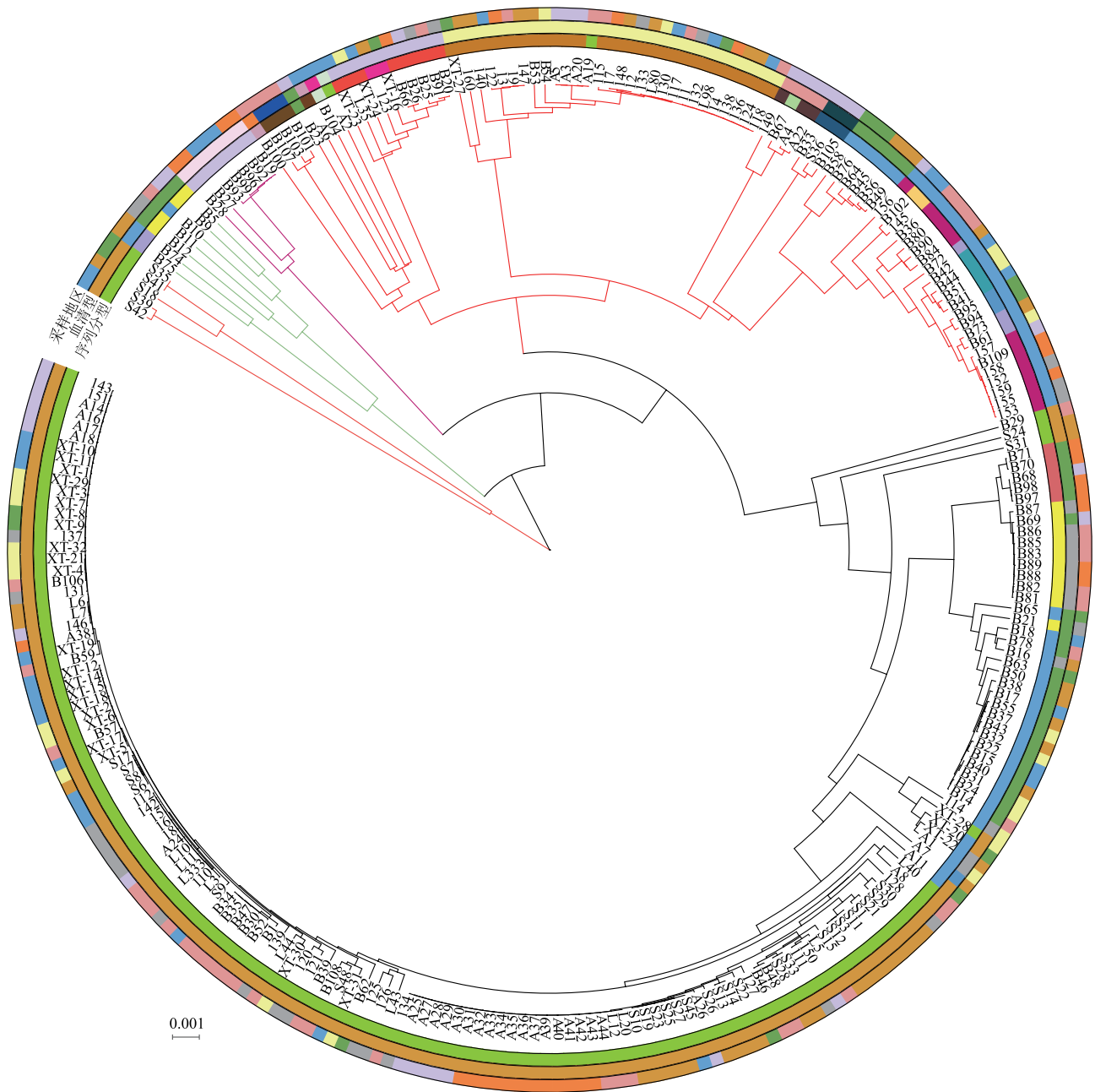
抗生素的长期滥用导致多种耐药沙门菌的出现,使得杀菌药物的选择更为困难,因此根据药敏试验结果合理使用抗菌药物显得尤为重要。本研究分离的 266 株沙门菌对 10 种常用抗生素的耐药情况显示,分离株对氨苄西林耐药较为严重,与韩毅等<sup>[26]</sup> 的研究结果相似,这可能是由于青霉素类药物在养殖业中使用较多。本研究分离的 266 株沙门菌中

多重耐药菌比例为 53.38%, 低于辽宁省 (66.0%)<sup>[27]</sup>、广东省 (82.61%)<sup>[28]</sup>、杭州市 (69.03%)<sup>[29]</sup> 的多重耐药菌比例,说明江苏地区沙门菌耐药情况相对上述省、市较轻。喹诺酮类药物具有广谱的杀菌效果,并且不易产生耐药性,尤其对于革兰氏阴性菌的杀菌效果更好。本研究中沙门菌分离株对喹诺酮药物的耐药率 (6.39%) 较低,因此,禽类养殖生产中,可以将喹诺酮药物作为防治沙门菌的首选药物。

沙门菌的耐药机制与携带的耐药基因有关,本研究从 266 株沙门菌分离株中检测到  $\beta$ -内酰胺类、氨基糖苷类、大环内酯类、磺胺类、喹诺酮类、利福平类、磷霉素类、四环素类、氯霉素类等 9 类耐药基因。磺胺类耐药基因中 *sul2* 检出率最高,为 59.40%,这与傅宏庆等<sup>[30]</sup> 的研究结果一致。266 株沙门菌中  $\beta$ -内酰胺类耐药基因携带率为 67.29%,低于张萍等<sup>[31]</sup> 的研究结果 (85.0%),这可能是由于采样地点不同所导致的。266 株沙门菌携带的四环素类耐药基因主要为 *tetA*,携带率为 39.10%,氯霉素类耐药基因主要为 *floR*,携带率为 21.80%,磷霉素耐药基因主要为 *fosA3*,携带率为 13.16%,利福平类耐药基因主要为 *arr-3*,携带率为 13.53%,喹诺酮类耐药基因主要为 *oqxA* 与 *oqxB*,携带率分别为 10.53% 和 10.15%,大环内酯类耐药基因主要为 *mphA*,携带率为 2.26%,上述结果与分离菌株耐药情况基本一致,说明可以通过耐药基因来预测对应的耐药表型<sup>[32]</sup>。

目前沙门菌中已经发现 24 个毒力岛相关基因,毒力岛分泌系统的进化是沙门菌适应新环境的关键机制之一<sup>[33-34]</sup>。本研究从 266 株沙门菌中共检测出 3 种毒力岛,携带 158 种毒力基因。其中,112 种毒力基因的检出率在 95.00% 以上。毒力岛基因表达水平的调控相关基因 *fur*、*rpos* 的检出率为 100.00%。毒力基因 *spvB*、*spvC*、*spvD* 的检出率为 71.80%、72.56%、72.56%,高于刘芳萍等<sup>[35]</sup> 的检测结果 (68.20%)。

综上所述,江苏省鸡源沙门菌对氨苄西林和磺胺甲噁唑的耐药率较高,耐药基因以 *bla<sub>TEM-1</sub>*、*tetA* 和 *sul2* 为主,血清型以肠炎、鸡白痢、鼠伤寒和印第安纳为主,江苏省各市沙门菌的优化分型为 ST11。本研究结果为江苏地区鸡源沙门菌的精准防治提供了科学依据。



序列分型(ST): ■ ST11; ■ ST13; ■ ST17; ■ ST19; ■ ST26; ■ ST34; ■ ST40; ■ ST92; ■ ST99; ■ ST128; ■ ST286; ■ ST292; ■ ST305;  
 ■ ST319; ■ ST413; ■ ST808; ■ ST1690; ■ ST1922; ■ ST2151; ■ ST3007; ■ ST NA;  
 血清型(Serotype): ■ Agona; ■ Albany; ■ Derby; ■ Enteritidis; ■ Gallinarum; ■ Indiana; ■ Kottbus; ■ Mbandaka; ■ Montevideo; ■ Pullorum;  
 ■ Senftenberg; ■ Tennessee; ■ Thompson; ■ Typhimurium; ■ NA;  
 采样地区: ■ 常州市; ■ 淮安市; ■ 南京市; ■ 南通市; ■ 宿迁市; ■ 徐州市; ■ 盐城市; ■ 扬州市

图2 分离菌株遗传进化树

Fig.2 Genetic evolutionary tree of isolated strains

参考文献:

[1] DENG X L, RAN L, WU S Y, et al. Laboratory-based surveillance of non-typhoidal *Salmonella* infections in Guangdong Province, China[J]. Foodborne Pathogens and Disease, 2012, 9(4):

305-312.  
 [2] GUIBOURDENCHE M, ROGGENTIN P, MIKOLEIT M, et al. Supplement 2003-2007 (No. 47) to the White-Kauffmann-Le Minor scheme[J]. Research in Microbiology, 2010, 161(1):26-29.  
 [3] BESSER J M. *Salmonella* epidemiology: a whirlwind of change[J].

- Food Microbiology, 2018, 71: 55-59.
- [4] 彭海滨, 吴德峰, 孔繁德, 等. 我国沙门菌污染分布概况[J]. 中国国境卫生检疫杂志, 2006(2): 125-128.
- [5] 王晓泉, 焦新安, 刘晓文, 等. 江苏部分地区食源性和人源沙门氏菌的多重耐药性研究[J]. 微生物学报, 2007, 47(2): 221-227.
- [6] 张璐. 鸡源沙门氏菌血清型、耐药性及分子流行病学研究[D]. 北京: 中国兽医药品监察所, 2021.
- [7] OBE T, BOLTZ T, KOGUT M, et al. Controlling *Salmonella*: strategies for feed, the farm, and the processing plant [J]. Poultry Science, 2023, 102(12): 103086.
- [8] BROWN E W, BELL R, ZHANG G, et al. *Salmonella* genomics in public health and food safety[J]. EcoSal Plus, 2021, 9(2): eE-SP00082020.
- [9] 沈海玉, 窦新红, 秦爱建. 江苏部分地区鸡胚源沙门氏菌的分离鉴定及耐药性分析[J]. 中国家禽, 2023, 45(10): 109-115.
- [10] 陈玉胜, 刘梅, 沈欣悦, 等. 江苏扬州某蛋种鸡场沙门氏菌耐药性调查与分析[J]. 中国禽业导刊, 2023, 40(12): 58-61.
- [11] 舒娟娟, 张伟冲, 袁峰, 等. 食品微生物的检测能力验证[J]. 上海预防医学, 2014, 26(3): 154-157.
- [12] 王鑫盛. 生猪屠宰过程中主要食源性致病菌检测及沙门氏菌耐药性与毒力基因分析[D]. 郑州: 河南农业大学, 2021.
- [13] 赵鑫锐, 张书祥. 产广谱乳酸菌素菌株的选育、鉴定及其发酵特性研究[J]. 工业微生物, 2010, 40(6): 49-54.
- [14] 付赛赛, 方磊涵, 汤伟. 鸡源 mcr-1 阳性多重耐药沙门菌的鉴定和特征分析[J]. 家畜生态学报, 2024, 45(9): 57-62.
- [15] LETUNIC I, BORK P. Interactive tree of life (iTOL) v6: recent updates to the phylogenetic tree display and annotation tool [J]. Nucleic Acids Research, 2024, 52(W1): 78-82.
- [16] 赵翠, 张庆, 郭树源, 等. 山东省动物源沙门氏菌 MLST 和血清分型与分布研究[J]. 中国人兽共患病学报, 2017, 33(9): 793-799.
- [17] GRÜNING B, DALE R, SJÖDIN A, et al. Bioconda: sustainable and comprehensive software distribution for the life sciences [J]. Nature Methods, 2018, 15(7): 475-476.
- [18] STRAHILEVITZ J, JACOBY G A, HOOPER D C, et al. Plasmid-mediated quinolone resistance: a multifaceted threat [J]. Clinical Microbiology Reviews, 2009, 22(4): 664-689.
- [19] HOLDEN D W. Trafficking of the *Salmonella* vacuole in macrophages [J]. Traffic, 2002, 3(3): 161-169.
- [20] 郝宏珊, 杨保伟, 师俊玲, 等. 鸡肉源沙门氏菌对喹诺酮和氟喹诺酮类抗生素耐药状况及相关基因[J]. 微生物学报, 2011, 51(10): 1413-1420.
- [21] 丁鑫. 2020-2021年江苏省散户鸭场沙门菌流行病学调查及噬菌体对沙门菌体内外消减效果评估[D]. 扬州: 扬州大学, 2023.
- [22] SUN H H, WAN Y P, DU P C, et al. The epidemiology of monophasic *salmonella* typhimurium [J]. Foodborne Pathogens and Disease, 2020, 17(2): 87-97.
- [23] 张纯萍, 宋立, 崔明全, 等. 我国鸡源沙门氏菌的血清型分布和对黏菌素耐药性的研究[J]. 中国兽药杂志, 2018, 52(1): 13-18.
- [24] 王小龙, 邹文燕, 朱莉勤, 等. 苏州市沙门氏菌血清型、耐药及多位点序列分型分析[J]. 微生物学通报, 2024, 51(10): 4245-4256.
- [25] 赵建梅, 李月华, 张青青, 等. 2008-2017年我国部分地区禽源沙门氏菌流行状况及耐药分析[J]. 中国动物检疫, 2019, 36(8): 27-35.
- [26] 韩毅, 沙丹, 张娜娜, 等. 2017-2020年江苏省无锡市沙门氏菌的血清型与耐药性研究[J]. 中国食品卫生杂志, 2022, 34(6): 1172-1178.
- [27] 于森, 耿英芝, 张铭琰, 等. 辽宁省市售禽肉中沙门氏菌的污染状况及其 MLST 分型与耐药性分析[J]. 微生物学通报, 2024, 51(7): 2486-2493.
- [28] 刘科, 周迪, 李海忠, 等. 鸡源沙门氏菌流行病学调查及耐药性分析[J]. 畜牧兽医科技信息, 2023(11): 65-68.
- [29] 郑之北, 郑伟, 汪皓秋, 等. 杭州地区多重耐药沙门氏菌的耐药特征[J]. 微生物学通报, 2021, 48(2): 536-544.
- [30] 傅宏庆, 刘莉, 姚志兰, 等. 苏北地区白羽肉鸡父母代种鸡及其商品鸡中沙门氏菌的分离、鉴定与生物特性[J]. 微生物学通报, 2020, 47(12): 4105-4112.
- [31] 张萍, 王静悦, 刘海侠, 等. 鸡源大肠杆菌对  $\beta$ -内酰胺类药物的耐药性分析和耐药基因检测[J]. 畜牧与兽医, 2024, 56(5): 44-50.
- [32] GORDON N C, PRICE J R, COLE K, et al. Prediction of *Staphylococcus aureus* antimicrobial resistance by whole-genome sequencing [J]. Journal of Clinical Microbiology, 2014, 52(4): 1182-1191.
- [33] WANG M Y, QAZI I H, WANG L L, et al. *Salmonella* virulence and immune escape [J]. Microorganisms, 2020, 8(3): 407.
- [34] 刘理慧, 储锦华, 隋雨欣, 等. 沙门氏菌中主要毒力因子的研究进展[J]. 生物技术通报, 2022, 38(9): 72-83.
- [35] 刘芳萍, 王德宁, 李昌文, 等. 鸡源沙门氏菌耐药性的分析及毒力基因的检测[J]. 中国兽医科学, 2013, 43(12): 1236-1239.

(责任编辑: 石春林)